FLUORESZENZSEROLOGISCHE REIHENUNTERSUCHUNGEN VON TAUBENZÜCHTERN

(Ein Beitrag zur Diagnostik der Taubenzüchterlunge)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

KLAUS-PETER LAU

aus

RINTELN/Wes.

BONN 1976

FLUORESZENZSEROLOGISCHE REIHENUNTERSUCHUNGEN VON TAUBENZÜCHTERN

(Ein Beitrag zur Diagnostik der Taubenzüchterlunge)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

KLAUS-PETER LAU

aus

RINTELN/Wes.

BONN 1976

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

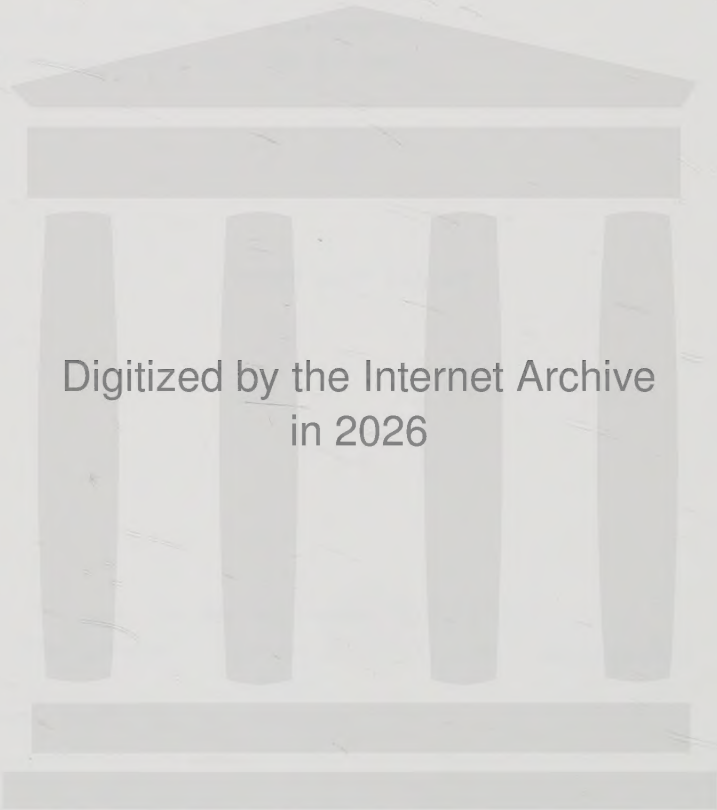
1. Gutachter: Prof. Dr. H.J.Dengler
2. Gutachter: Prof. Dr. Chr.Rittner

Aus der Medizinischen Klinik der
Rheinischen - Friedrich - Wilhelms - Universität
Bonn
Direktor: Prof. Dr. H.J.Dengler

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meiner Frau Hanne


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523717_0011

INHALT

Historisches 1

Häufigkeit 2

Symptome und Befunde 2

Immunserologische Befunde 3
1. Immunelektrophorese und Agar-Gel-Doppeldiffusion 3
2. Immunfluoreszenz 4
3. Komplementuntersuchungen 4
4. Zelluläre Immunität 6
5. Gewebsantigene 6
6. Hauttests 6
7. Provokationstests 7

Pathogenese und Tiermodell 7

Problemstellung 8

Material und Methode 9

I. Anamnese 9

II. Nachweis präzipitierender Antikörper 9

III. Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm 10
a) Bindung von Ig G - Antikörpern 10
b) Bestimmung der Titerhöhe Antikörper-haltiger Seren 11
c) Bindung der Komplement - Komponenten $C1_q$ u. C3 12
d) Bindung von Antikörpern der Ig G - Unterklassen G_1 - G_4 13
e) Bindung von Ig A - Antikörpern (Fluoreszenzmethode) 13
f) Bindung von Ig A - Antikörpern (Peroxydasemethode) 14

Ergebnisse 14
I. Anamnese 14

II. Nachweis präzipitierender Antikörper 16

III. Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm 16
a) Bindung von Ig G- Antikörpern 16
b) Bestimmung der Titerhöhe Antikörper-haltiger Seren 17
c) Bindung der Komplement-Komponenten $C1_q$ u. C3 19
d) Bindung von Antikörpern der Ig G- Unterklassen G_1- G_4 19
e) Bindung von Ig A- Antikörpern (Fluoreszenzmethode) 20
f) Bindung von Ig A-Antikörpern (Peroxydasemethode) 21

Interpretation und Diskussion 22

I.Anamnese 22

II. präzipitierende Antikörper 22

III. Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm 23
Ig G- Antikörper 23
Vergleich: präzipitierende Antikörper - Fluoreszenzmuster 23
Titerstufen 24
Komplementversuch 24
Ig G- Untergruppen G_1- G_4 26
Antikörper der Ig A-Klasse 27

Zusammenfassung

Es wurde eine serologische Reihenuntersuchung bei Taubenzüchtern durchgeführt. 148 Seren wurden nach spezifischen Antikörpern gegen Taubeneiweiß und Taubenkot untersucht. Außerdem wurden bei verschiedenen Einzeltests unterschiedlich viele Seren von Patienten mit nachgewiesener Taubenzüchterlunge mitgetestet. Es wurden die Methoden der Agar-Gel-Doppeldiffusion und der indirekter Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm verwendet.
Im Agar-Gel-Doppeldiffusionstest wurden präzipitierende Antikörper gegen Taubenkot in 27% der 148 untersuchten Seren gefunden, Antikörper gegen Taubenserum in 1o,8%. In der indirekten Immunfluoreszenz wurden bei 66,8% der 148 Taubenzüchterseren Antikörper vom Typ IgG nachgewiesen. Das Fluoreszenzmuster I, das bei Patienten mit nachgewiesener Taubenzüchterlunge (pos. Provokationstest) in 100% auftritt, wurde bei 11 Probanden (=8%) ohne anamnestischen oder klinischen Hinweis auf eine Taubenzüchterlunge gefunden, jedoch ein Drittel der anamnestisch verdächtigen Taubenzüchter (Anzahl=9) zeigten Muster I. Von diesen 9 anamnestisch verdächtigen Züchtern kamen 2 zur Testung in die Medizinische Universitäts-Klinik. Sie ließen sich mit Taubenkotstaub provozieren. Die übrigen in der indirekten Immunfluoreszenz positiven Seren wiesen Muster II und III auf. Die Seren, die Muster I auf dem Taubendarm hervorriefen, hatten die höchsten Antikörpertiter. Zur weiteren Identifizierung des spezifischen Antikörpers vom IgG-Typ wurde nach IgG-Untergruppen (G_1-G_4) aufgeschlüsselt (ebenfalls mit der Immunfluoreszenzmethode) und dabei ein gehäuftes Vorkommen des IgG_4 in 60% der untersuchten Seren, sowohl klinisch gesunder als auch kranker Züchter, gefunden. Außerdem wurde das Auftreten von spezifischen Antikörpern des IgA-Typs bei 5 von 10 erkrankten Taubenzüchtern gefunden. Diese spezifischen Antikörper konnten sowohl mit der Fluoreszenzmethode als auch mit der Peroxydasereaktion auf dem Taubendarm nachgewiesen werden. Fluoreszenzserologisch reagierten Fluoreszein-markierte Antisera gegen die Komplementkomponenten $C1_q$ und C3 mit verschiedenen Strukturen des Taubendarms, der zuvor mit Seren von Taubenzüch-

tern überschichtet worden war. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich hierbei zum Teil um eine unspezifische Bindung handelte. Anti C3 band sich mit 97% häufiger als Anti $C1_q$ mit 17%.

Diese Ergebnisse zeigen, daß es mit der indirekten Immun= fluoreszenz auf Taubendarm möglich ist, bei einem noch grös= seren Prozentsatz als bisher bekannt, bei Taubenzüchtern spezifische Antikörper gegen Taubenproteine nachzuweisen. Die Differenzierung der Immunfluoreszenzmuster auf dem Tau= bendarm beim Nachweis der IgG-Antikörper in den Probanden= seren engt den Kreis der Patienten mit möglicher Taubenzüch= terlunge stark ein, so daß der Immunfluoreszenz mit Anti-IgG von allen hier getesteten Verfahren die größte diagnostische Relevanz zukommt.

Historisches

1932 beschrieb Campbell (6) eine neue Krankheit, die er bei Bauern im westlichen England beobachtete. Nach einem besonders feuchten Sommer traten im Frühjahr darauf bei fünf Bauern bis zu 36 Stunden nach der Arbeit im Heuschober Kurzatmigkeit, Zyanose und unproduktiver Husten auf. Bei Andauern der Symptome folgte ein teilweise erheblicher Gewichtsverlust bei reduziertem Allgemeinzustand. Campbell hielt die Erkrankung für eine inhalative Pilzinfektion mit im feuchten Heu besonders gut gedeihenden thermophilen Aktinomyceten.

In den 50-er Jahren wurden weitere allergische Pneumopathien auf andere Allergene beobachtet, in den 60-er und 70-er Jahren wurde erkannt, daß es sich nicht um eine Infektion, sondern um eine allergische Reaktion handelte. Das krankmachende Agens waren organische Partikel wie Pilzsporen, organische Stäube und tierische Proteine: Baumwollstaub (Byssinose), kontaminiertes Wasser in Luftbefeuchtern (Befeuchterkrankheit), verschimmelte Zuckerrohrabfälle (Bagassose), Schimmel auf dem Käse (Käsewascherkrankheit) u.v.a. (23). Für diese Erkrankungsgruppe ist im amerikanischen Schriftum der Begriff der hypersensitiven Pneumonitis, bei den Engländern der Begriff der exogen allergischen Alveolitis gebräuchlich. Dieser Begriff hat sich bei uns in letzter Zeit überwiegend eingebürgert.

1965 beschrieb Reed et al.(25) drei Fälle einer "interstitiellen Pneumonitis" bei Taubenzüchtern. Die Patienten schilderten die Beschwerden folgendermaßen: etwa vier Stunden nach der Reinigung des Taubenschlages bekämen sie Fieber, Schüttelfrost, Schweißausbrüche und unproduktiven Husten. Ein Patient gab Myalgien an, ein anderer Gewichtsverlust von 9 kg. Reed beschrieb auch die typischen Befunde (s.u.) im Blutbild, in der Immunelektrophorese und im Röntgenbild. Er führte ferner Lungenfunktionstests und Provokationen mit verschiedenem antigenetischen Material (Federstaub, Kot, Serum) durch. Er wies nach, daß es sich um ein Krankheitsbild aus der Gruppe der exogen allergischen Alveolitiden (allergischer Spättyp) handelte. Er und vor allem

die Arbeitsgruppe um Fink wiesen das Auftreten humoraler Antikörper nach. Fink fand später auch eine Immunantwort vom zellulärem Typ (22) bei der "pigeon bredders' disease".
1974 veröffentlichte L. Berrens (3) Befunde über Veränderungen im Komplementsystem von erkrankten Taubenzüchtern, woraufhin er die Hypothese aufstellte, daß in der Pathogenese der Erkrankung die Labilität eines Faktors des "alternate pathway" (ein Nebenschluß bei der Komplementaktivierung) eine ursächliche Rolle spielt (weiteres s. Pathogenese).

Häufigkeit

1969 schätzte Wettengel (29) die Frequenz der Taubenzüchterlunge in Europa auf nur 0,1%. Caldwell nannte 1973 (5) eine Inzidenz (Neuerkrankungen innerhalb eines bestimmten Zeitraumes in einer definierten Population) der Taubenzüchterlunge in USA von 6%.

Symptome der Taubenzüchterlunge und Befunde

Die Symptome der Taubenzüchterlunge treten typischerweise erst nach einem beschwerdefreien Intervall von vier bis acht Stunden nach Reinigung des Taubenschlages auf (29). Jedoch nicht nur massive Inhalation von Staub, wie bei der Reinigung des Schlages, führt zu charakteristischen Beschwerden, in fortgeschrittenen Fällen reicht es aus, wenn der Patient nur in die Nähe von Tauben kommt, z.B. eine Taube nur in der Hand gehalten hat. Die Beschwerden beginnen typischerweise mit Husten, Atemnot, Schüttelfrost und Fieber. Selten sind die Symptome von rheumatischen Beschwerden und Kopfschmerzen begleitet.
Während der akuten Phase der Krankheit sind über den basalen Lungenabschnitten feinblasige Rasselgeräusche auskultierbar (26). Als Korrelat zeigt sich bei hochakuten Erkrankungen im Röntgenbild über der gesamten Lunge eine diffuse miliare Verschattung. Labortechnisch findet man im akuten Stadium eine Leukozytose (19), sowie eine mäßige bis hochgradige Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit. In der Elektrophorese ist das Albumin meistens vermindert, das α_1- und das γ-Globulin erhöht. Nach langer Zeit führt die Erkrankung zu Gewichtsabnahme und zu chronischen Atembeschwerden, deren anatomisches Korrelat

eine fortschreitende Lungenfibrose mit Cor pulmonale ist.

Immunserologische Befunde

1. Immunelektrophorese und Agar-Gel-Doppeldiffusionstest
   = Nachweis präzipitierender Antikörper

Fink und Mitarb. (14) fanden bei 40% aller Taubenzüchter präzipitierende Antikörper gegen Taubenkot. Bei 23 von 100 Taubenzüchtern fanden Sennekamp und Mitarb. (28) im Agar-Gel-Doppeldiffusionstest Präzipitationslinien mit Taubenserumalbumin.

Als Antigen identifizierte Edwards (9) vier Taubeneiweiße, alle Proteine wurden gleichzeitig im Eileiter der Taube und im Eiereiweiß gefunden. Es waren dies eine Albuminfraktion (pigeon serum albumin, PSA), ein β-Globulin (pigeon β-Globulin) und ein γ-Globulin (pigeon γ-Globulin, PGG), sowie ein mit dem letzten kreuzreagierendes γ-Globulin 'X' (XPGG). Dazu kommen noch die Kotantigene.

Im Taubenkot erscheinen Taubenalbumin und Immunglobuline der Taube (1o). Albumine und Immunglobuline des Taubenkots zeigen eine totale oder partielle Identität mit den entsprechenden Fraktionen des Taubenserums (2). Zusätzlich kommen im Taubenkot als potentielle Antigene noch mehrere Komponenten vor: hochmolekulare Polysaccharide, Teichoinsäure der Bakterien, C-Substanzen der Bakterien, Glykoproteine und Proteasen (11) (3).

Erkrankte Taubenzüchter haben in den meisten Fällen Präzipitationsbanden gegen sämtliche vier Fraktionen des Taubenserums (PSA, PBG, PGG, XPGG). Die Präzipitationslinien der Taubenzüchterseren gegen Kotextrakte sind meist stärker ausgeprägt als die Serumpräzipitationslinien (14). Antikörper gegen Taubenkotextrakt sind häufiger als gegen Taubenserum (2).

Es gab jedoch auch Seren symptomatischer Taubenzüchter, die nur eine Präzipitation gegen γ-Globulin zeigten. Andererseits zeigten auch nicht erkrankte Kontrollpersonen unspezifische Präzipitationslinien gegen Vogelimmunglobuline und Kotextrakt (16).

Berrens berichtete 1974 (3) über Patienten, die an einer Taubenzüchterlunge erkrankt waren und keine präzipitierenden Antikörper gegen Kotextrakt hatten. Diese Ergebnisse stellten den Wert der Präzipitationsuntersuchungen in Frage. Es ist aber möglich, daß nicht-präzipitierende Antikörper bei diesen Fällen vorkommen(22) (17).

2. Immunfluoreszenz

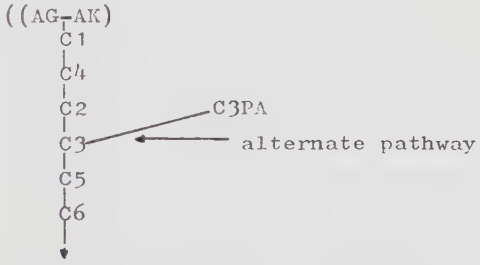
Zum Nachweis von präzipitierenden und nicht-präzipitierenden Antikörpern beschrieb Sennekamp 1974 (26) eine Methode der indirekten Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm (8). Yang und Purtillo (30) führten bei zwei Patienten ebenfalls eine Immunfluoreszenz auf Taubendarm durch. Da diese Methode Grundlage und Gegenstand dieser Arbeit ist, wird sie unter " Material und Methode" beschrieben . Allgemein soll kurz erwähnt werden, daß durch die indirekte Immunfluoreszenz der gewebsgebundene Antigen-Antikörper-Komplex sichtbar gemacht wird. Dies geschieht durch Ankopplung eines mit Fluoreszein markierten Globulins an den gewebsgebundenen Serum-Antikörper. Das Fluoreszein-markierte Globulin wird vorher in geeigneten Tieren durch Immunisierung mit dem spezifischen Antikörper hergestellt (z.B. Fluoreszein-markierte Schweineglobulin gegen menschliches IgG). Die menschlichen Antikörper werden auf Tiergewebsschnitten nachgewiesen, analog den antinukleären Faktoren auf der Rattenleber. Das tierische Gewebe hat in diesem Fall keine pathogenetische Beziehung zu der menschlichen Erkrankung. Die Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm hat gegenüber dem üblichen Vorgehen einen besonderen Vorteil. Der Taubenkot spielt in der Ätiologie der Taubenzüchterlunge eine hervorragende Rolle (9), bewiesen durch positive Provokationstests erkrankter Taubenzüchter. Durch die Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm erhält man nicht nur eine qualitative (und evtl. quantitative) Aussage über die Existenz von spezifischen Antikörpern im Probandenserum, zusätzlich erhält man eine Aussage über die Lokalisation des Antigens im Taubendarm.

3. Komplementuntersuchungen

Mit der Untersuchung der Rolle des menschlichen Komplements bei der Taubenzüchterlunge beschäftigten sich mehrere Ver= fasser. Caldwell (5) isolierte das IgG kranker Taubenzüch= ter und inkubierte es mit Taubenserum. Er untersuchte die Inaktivierung der menschlichen C4 - Komplementkomponente und fand, daß diese Komponente zwischen 70% und 92% inaktiviert wurde. Zudem fand er eine Bindung von Fluoreszein-markierten Anti-C3 und Anti-C4 Globulinen in Hautpräparaten kranker Tau= benzüchter, bei denen er vorher mit Taubenserum s. c. eine Arthus-Reaktion auslöste.

Berrens fand 1974 (3) bei einem in vitro - Test eine Inak= tivierung der C3-Komponente. Er äußerte jedoch die Vermutung, daß diese Reaktion nicht durch eine Antigen-Antikörper-Reak= tion hervorgerufen werde, sondern durch eine Anstoßung des "alternate pathway". Der "alternate pathway" ist ein Neben= schluß bei der Komplementaktivierung, hervorgerufen durch Substanzen wie z.B. Zymosan, Endotoxin, Dextran zusammen mit Kofaktoren (z.B. Properdin). Bei diesem Prozess wird ein C3-Proaktivator (C3PA)(s. Abb.1.) gebildet (4).

Abb.1)



Erkl.:
AG-AK = Antigen-Antikörper-Komplex

Berrens vermutet, daß ein hydrolytisches Enzym im Taubenkot (Heteropolysaccharid) den alternate pathway anstößt. Bei erkrankten Taubenzüchtern läge eine Labilität des C3PA vor. Caldwells Ergebnisse widersprechen dieser Vermutung, da der von ihm gefundene Verbrauch der C4-Komponente auf dem klas= sischen Aktivierungsweg vor dem C3 liegt.

Moore und Mitarb.(22) führten 1975 erstmals eine in vivo-Bestim= mung des Gesamtkomplements bei gesunden und kranken Kaninchen durch. Die Kaninchen hatten Aerosol von Taubenkotextrakt inha=

liert, eine akute exsudative Pneumonie konnte jedoch nur bei einer Gruppe von Kaninchen ausgelöst werden, welche gleichzeitig mit den Inhalationen einen abgetöteten Stamm von BCG i.v. injiziert bekam. Die Tiere, die nur inhaliert hatten, erlitten während der Exposition einen Abfall des Gesamtkomplements, Tiere, die gleichzeitig mit BCG behandelt worden waren, erlitten keinen Abfall des Komplements. Analoge Befunde hatte Moore bei gesunden und kranken Taubenzüchtern erhoben (21).
Durch die BCG - Impfung war bei den Tieren eine zelluläre Immunantwort ausgelöst worden. Moore schließt daraus, daß bei der Pathogenese (s. dort) die zelluläre Immunantwort eine entscheidende Rolle spielt. Moore erklärt den fehlenden Komplementabfall bei Kaninchen mit einer Alveolitis durch einen "trapping effect" der entzündeten Lunge, dadurch kann das Antigen nicht in den Kreislauf gelangen, also auch keinen Komplementabfall auslösen.

4. Zelluläre Immunität
Moore wies 1975 (22) in einem Tierversuch bei Kaninchen nach, daß die Tiere mit experimentell erzeugter exogen allergischer Alveolitis nach Zugabe von Antigen in vitro den "Migrations - inhibierenden - Faktor" (MIF) produzieren. Schon 1973 hatte Caldwell (5) bei symptomatischen Taubenzüchtern den MIF nachgewiesen. Auch Allen (1) wies bei sechs Mitgliedern von zwei Familien, von denen sieben Mitglieder an einer Taubenzüchterlunge erkrankt waren, den MIF nach.

5.Gewebsantigene
In diesen zwei Familien suchte Allen nach genetisch prädisponierenden Faktoren für die Taubenzüchterlunge und fand unter den Gewebsantigenen der HL - A Gruppe mögliche Anhaltspunkte für eine Krankheitsanfälligkeit.

6. Hauttests
Caldwell führte 1975 (5) im Selbstversuch eine Prausnitz - Küstner - Reaktion durch. Er fand sowohl eine Sofortreaktion (Typ I

nach Coombs und Gell) (7), als auch eine Reaktion nach vier bis acht Stunden. Gleiche Befunde, sowie eine Spätreaktion nach 12 bis 24 Stunden fand Fink 1968 (15). Aber auch mit Hilfe der Hauttests läßt sich kein eindeutiger Unterschied zwischen symptomatischen und asymptomatischen Taubenzüchtern erkennen, da er auch bei gesunden Taubenzüchtern positiv ausfallen kann.

7. Provokationstests

Einen eindeutigen Nachweis der Taubenzüchterlunge bringt der Provokationstest (26). Dabei wird Taubenkot oder lyophilisiertes Taubenserum inhaliert (Fink). Vor und nach der Exposition bestimmt man möglichst die Lungenfunktion, die Blutgase und weitere labortechnische Parameter (Differentialblutbild usw.).

Pathogenese und Tiermodell

Je nach Versuchsanordnung und - ergebnissen stellen die verschiedenen Verfasser unterschiedliche Modelle der Pathogenese auf. Nach Caldwell (5) spielt sich die humorale Antigen-Antikörper-Reaktion in der Lunge ab. Die Antikörper gehören der IgG-Klasse an. Durch die Antigen - Antikörper - Komplex wird Komplement aktiviert, welches ein interstitielles Ödem hervorruft. Dadurch werden polymorphkernige Leukozyten angezogen, die durch proteolytische Enzyme die Zellen zerstören (= Arthus-Reaktion). Berrens vermutete 1974 (3) bei erkrankten Taubenzüchtern eine evtl. familiär bedingte Labilität eines Faktors des sog. alternate pathway der Komplementaktivierung. Das Komplement werde nicht durch einen Antigen - Antikörper- Komplex aktiviert, sondern durch Enzyme des Taubenkots.

Ebenfalls eine genetisch Disposition vermutete Allen 1975 (1). Er untersuchte die Gewebsantigene der HL- A Gruppe bei zwei Familien mit vermehrt aufgetretener Taubenzüchterlunge.

Die Arbeitsgruppe um Fink entwickelte zwei Tiermodelle und kam zu unterschiedlichen Ergebnissen. 1970 (13) ließen sie Ratten Kotextrakt inhalieren und fanden als Frühreaktion nach sieben Tagen histologisch fokale interstitielle Pneumonien, eine Infiltration der Alveolarsepten mit Lymphozyten, Plasma-

zellen, "epitheloide Histiozyten" sowie Schaumzellen in den Alveolen. Als Spätreaktion fanden sie eine chronische interstitielle Pneumonie, sowie Granulome aus Lymphozyten, Plasmazellen und "epitheloiden Histiozyten", ohne mehrkernige Riesenzellen. Entsprechende Befunde sah die gleiche Gruppe in Lungenbiopsien erkrankter Taubenzüchter (20). Nach vierzehn Tagen hatten alle Ratten präzipitierende Antikörper.
1975 ließen sie Kaninchen Taubenkotextrakt inhalieren (22). Man fand zwar eine humorale Immunantwort bei den Tieren, jedoch keine Lungenschädigung. Die pulmonalen Läsionen entstanden erst nach i.v. Injektion von abgetöteten Tuberkelbazillen, die eine zelluläre Immunantwort hervorriefen. Fink und Mitarb. fanden bei den erkrankten Tieren den Migrations-inhibierenden-Faktor (MIF), analog zu den Befunden von Caldwell (5) und Allen (1) bei symptomatischen Taubenzüchtern. Die Beteiligung des Komplements bei dem pathogenetischen Prozeß wurde von Moore folgendermaßen erklärt: das inhalierte Antigen führt zu einer humoralen Immunantwort, das Komplement ist an der Beseitigung des Antigens beteiligt (Komplementabfall), es kommt zu keiner pulmonalen Reaktion. Kommt eine zelluläre Immunreaktion hinzu, hervorgerufen durch irgendein äußeres Agens (z.B. Infekte, Grippeimpfung etc.; s. Sennekamp 1974 (26), so kommt es zur Alveolitis. Durch einen "trapping effect" der entzündeten Lunge gelangt das Antigen nicht in den Kreislauf, es kann folglich zu keinem Komplementabfall führen.

Problemstellung

Trotz der vielfältigen theoretischen Ansätze in der Klärung der Genese der Taubenzüchterlunge und trotz der unterschiedlichen Ergebnisse der genannten Untersuchungsmethoden (s.o.) ist dem Untersucher kein laborchemisches Verfahren zur eindeutigen Diagnostik der Taubenzüchterlunge gegeben. Der Provokationstest im Taubenschlag allein ist absolut krankheitsabweisend. Da dieses umständliche Verfahren allgemein nicht durchführbar ist und ausserdem in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung (Cor pulmonale) zu belastend ist, war es Ziel dieser Arbeit, neue Unter-

suchungsmethoden zu entwickeln. Die indirekte Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm hatte sich bereits in früheren Untersuchungen (28) als empfindliche Methode gezeigt. Mit dieser Methode wurden der Charakter und die Eigenschaften des spezifischen Antikörpers untersucht.

Material und Methode

Es wurden Blutseren von 148 Taubenzüchtern untersucht. Das Blut wurde von Mitgliedern verschiedener Reisevereinigungen im Bonn-Siegburger Raum sowie im Ruhrgebiet bei Einsatzterminen entnommen. Zu diesen Terminen sammeln sich die Taubenzüchter an bestimmten Orten, um die Tauben gemeinsam zum Auflaßort zu senden. Zur Kontrolle, insbesondere bei erstmalig durchgeführten Versuchen mit Anti- Ig G-Untergruppen G_1- G_4, sowie bei Versuchen mit Anti- Ig A wurden verschieden große Kontrollkollektive von Patienten untersucht, die keinen Kontakt mit Tauben hatten. Die Seren wurden der Rheuma- Routine des Immunologischen Labors entnommen.

I. Anamnese

Bei der Blutentnahme wurde eine spezielle Anamnese erhoben, wobei vor allem nach spezifischen Symptomen (s.o.), nach der Anzahl der Tauben, sowie nach der Zahl der Züchterjahre gefragt wurde.

II. Nachweis präzipitierender Antikörper
im Agar-Gel-Doppeldiffusionstest

Der Doppeldiffusionstest nach Ouchterlony wurde in 1%-igem Agar (Agar purum, Behringwerke, Marburg) auf Objektträgern durchgeführt. In den Seren aller 148 Taubenzüchter wurden sowohl präzipitierende Antikörper gegen Taubenserum als auch gegen Taubenkot gesucht.

Das Taubenserum wurde unverdünnt in die gestanzten Löcher des erstarrten Agar gefüllt.

Von dem frischen Taubenkot wurde eine 1:1- Verdünnung mit Phosphat (PBS) - Puffer, pH 7,4, hergestellt, nach 3o Minuten

wurde zentrifugiert bei 3000 Upm, 10 Minuten lang.

Der Phosphat (PBS)- Puffer besteht aus drei Komponenten:

15 ml Lös. A = 13,801 g NaH_2PO_4 H_2O auf 1000 ml aqua dest.
85 ml Lös. B = 17,8 g Na_2HPO_4 2 H_2O auf 1000 ml aqua dest.
90 ml Lös. C = 87,681 g NaCl (1,5 mol) auf 1000 ml aqua dest.

Die drei Lösungen werden auf 5000 ml aqua dest. aufgefüllt.

Der Kotextrakt wurde ebenfalls in die vorgestanzten Löcher auf den Objektträger gefüllt. Abgelesen wurde das Resultat nach 36- und 48- stündiger Inkubation im Kühlschrank bei $4^{\circ}C$.

III. Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm

Es wurde die das Pankreas enthaltende Schlinge des oberen Darmes der Taube entfernt und mit Phosphat (PBS)-Puffer, pH 7,4, (s.o.) durchspült. Durch diesen Vorgang wurde der Kot aus der Schlinge grob entfernt, in der Tiefe der Schleimhautkrypten blieben jedoch Kotreste zurück. Anschließend wurde der Darm mit flüssigem CO_2 der Temperatur von etwa $-70^{\circ}C$ fixiert und bei $-20^{\circ}C$ für 30 Minuten im Kryostat (System Dittes-Duspivia) inkubiert. Danach wurden von dem Taubendarm im Mikrotom Schnitte in der Dicke von 5 μ m angefertigt. Die Gewebeschnitte wurden auf Objektträgern fixiert und für 1 Stunde bei Zimmertemperatur getrocknet.

a) Bindung von IgG-Antikörpern

Die zu untersuchenden Seren wurden mit Phosphat (PBS)-Puffer 1:5 verdünnt und in Eppendorf-Hütchen in der Eppendorf-Zentrifuge Typ 3200 zentrifugiert. Anschließend wurden die Seren auf die Gewebsschnitte des Taubendarmes gebracht und für 30 Minuten bei Zimmertemperatur in eine feuchte Kammer gestellt. Danach wurden die Präparate dreimal 10 Minuten in Phosphat (PBS)-Puffer (s.o.) gewaschen, wobei das überflüssige Serum entfernt wurde. Nachdem die Präparate wieder getrocknet waren, wurde Fluoreszein-markiertes Antiserum von der Ziege gegen menschliches Ig G auf den Taubendarm getropft (Fa. Hyland, Costa Mesa, Ca,USA).

Im Anschluß daran wurde erneut in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur inkubiert und drei Mal gespült (s.o.). Nachdem die Präparate wiederum getrocknet waren, wurden sie mit einer NaCl-Glycerin- Mischung 1:9 überdeckt und mit einem Deckgläschen versehen. Beurteilt wurden die Präparate unter einem Fluoreszenz- Mikroskop der Fa. Ortholux, Leitz, Wetzlar, wobei ein BG 12 Erregerfilter und ein K 530 Sperrfilter verwendet wurde. Beurteilt wurde das Ergebnis nach dem Auftreten von Fluoreszenzmustern (28) auf dem Taubendarm (s.u.).
Der Schnitt des Darmes weist folgende Strukturen auf: lumenwärts finden sich Zotten und Krypten der Mukosa, zwischen den Zotten liegen Reste von Kot. Unmittelbar unter der Epithelschicht der einzelnen Zotten zeigt sich häufig eine Schicht, die einer Basalmembran gleicht, darunter befindet sich das Zottenstroma mit Gefäßen. Außen findet man Schichten der glatten Muskulatur.

Es wurde im einzelnen die Fluoreszenz folgender Strukturen beurteilt: glatte Muskulatur, Zottenstroma, Zottenepithel, Basalmembran und Kot. Dabei ließen sich drei Stufen der Fluoreszenzintensität unterscheiden, sie wurden + bis +++ benannt.
Es zeigten sich 3 Muster (28):
Muster I: Fluoreszenz des Zottenstroma und der Epithelien, keine Kotfluoreszenz
Muster II: Fluoreszenz der Zottenepithelien und Basalmembranen, geringe Stromafluoreszenz, in der Tiefe der Krypten zeigt sich eine periphere Fluoreszenz der kleinen Kotballen, lumenwärts stärkere Fluoreszenz des gesamten Kotballens
Muster III: Kotfluoreszenz, manchmal geringe Epithelfluoreszenz

b) Bestimmung der Titerhöhe Antikörper- haltiger Taubenzüchterseren

Es wurde bei dieser Untersuchung dieselbe Methode verwandt, wie bei der Untersuchung der Bindung von Ig G-Antikörpern auf dem Taubendarm. Es wurde auch dasselbe Antiserum verwandt. Verändert wurde allein die Verdünnung der Taubenzüchterseren, und zwar von der üblicherweise verwendeten Grundverdünnung 1:5

mit Phosphat (PBS)- Puffer bis zur Verdünnung 1 : 15 625.

c) Bindung der Komplement - Komponenten $C1_q$ und C3
Die Gewebeschnitte des Taubendarmes wurden in der oben beschriebenen Weise auf den Objekträger gebracht. Das Probandenserum wurde mit Veronalpuffer, pH 7,2, im Verhältnis 1:5 verdünnt.

Veronalpuffer (nach Mayer) :

NaCl	83,8 g
$NaHCO_3$	2,52g
Barbituralnatrium	3,00g
Barbitursäure	4,6 g
$MgCl \cdot 6 H_2O$	1,0 g
$CaCl_2 \cdot 6 H_2O$	0,2 g
auf 10 l Wasser	

(Barbitursäure in heißem Wasser lösen)

Veronalpuffer wurde verwandt, da Mg^+- und Ca^{++}- Ionen zur Aktivierung der Komplement - Reaktionskette nötig sind, besonders bei der Stufe der C1 - Fixierung an den AG - AK - Komplex und der C2 - Komponente an den Komplex (AG - AK) $C1^4$....

Das verdünnte Serum wurde auf den getrockneten Schnitt des Taubendarmes getropft und in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur für 30 Minuten inkubiert. Danach wurden die Präparate dreimal 10 Minuten in Phosphat (PBS) - Puffer (s.o.) gespült. Nachdem die Schnitte getrocknet waren, wurden zwei Tropfen frisches Serum, Komplement enthaltend (von Mitgliedern des immun. Labors), auf den Taubendarm getropft. Durch Kontrollpräparate wurde ausgeschlossen, daß das Serum der Labormitglieder Antikörper gegen Taubendarm enthielt. Die mit Komplement beladenen Darmschnitte wurden erneut in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur für 30 Minuten inkubiert und anschließend dreimal je 10 Minuten in Bädern mit Phosphatpuffer gewaschen. Nach diesem Prozeß wurde das Fluoreszein - markierte Antiserum vom Kaninchen gegen menschliche $C1_q$- und C3 - Komplementkomponente ge=

bracht (Fa. Behring, Marburg), und zwar in einer Verdünnung 1:5 mit Veronalpuffer (s.o.). Nach erneutem Inkubieren in der feuchten Kammer und Spülen in Phosphatpuffer (Verfahren s.o.) wurden die Präparate getrocknet und mit NaCl- Glycerin (1:9) eingedeckt. Anschließend wurde das Ergebnis unter dem Fluoreszenzmikroskop beurteilt (s.o.).

d) Bindung von Antikörpern der Ig G- Unterklassen G_1- G_4

Das Serum der Versuchspersonen wurde in der bereits beschriebenen Weise auf den Objektträger mit dem Taubendarmpräparat gebracht. Im Anschluß daran wurde das Antiserum vom Schwein gegen Untergruppen G_1- G_4 des menschlichen G- Immunglobulins in der Verdünnung 1:10 mit Phosphat (PBS)- Puffer, pH 7,4, auf das Präparat gebracht (SwAHu Ig G_1- G_4, Fa. Nordic Immunology, Berchen, Antwerpen). Die Objektträger wurden in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur für 30 Minuten inkubiert und in drei Bädern mit Phosphatpuffer dreimal je 10 Minuten gewaschen. Daraufhin wurde das Fluoreszein- markierte Antiserum von Kaninchen gegen Immunglobuline vom Schwein in der Verdünnung 1:20 mit Phosphatpuffer auf das Präparat gebracht (RaASw FITC, Fa. Nordic Diagnostics, Berchen, Antwerpen). Das Fluoreszein-Serum von Kaninchen band sich also nun (soweit vorhanden) an den Komplex (Taubenzüchterserum- Taubendarm)- Schwein anti menschliches Ig G_1-G_4. Nach erneuter Inkubation in der feuchten Kammer sowie dreimaligem Spülen mit Phosphatpuffer (PBS) wurden die Präparate, wie bereits beschrieben, getrocknet, eingedeckt mit NaCl-Glycerin (1:9), und unter dem Fluoreszenzmikroskop beurteilt.

e) Bindung von Ig A-Antikörpern (Fluoreszenzmethode)
Es wurde dieselbe Methode der indirekten Immunfluoreszenz verwandt die bereits bei der Untersuchung der Bindung von Ig G- Antikörpern auf dem Taubendarm beschrieben wurde. Abweichend wurde jedoch Fluoreszein- markiertes Antiserum von der Ziege gegen menschliches Ig A benutzt (Fa. Hyland, Costa Mesa, Ca., USA).

f) Bindung von Ig A-Antikörpern (Peroxydasemethode)
Der Taubendarm wurde in üblicher Weise geschnitten und auf den Objektträger gebracht (s.o.). Das Serum der Versuchsperson wurde in der Verdünnung 1:5 mit Phosphat (PBS)-Puffer (p.H. 7,4) (s.o.) auf den Darm getropft, 30 Minuten bei Zimmertemperatur in der feuchten Kammer inkubiert, danach wieder dreimal je 10 Minuten in Phosphatpuffer gewaschen. Im Anschluß daran wurde Peroxydase- markiertes Antiserum vom Kaninchen gegen menschliches Ig A (Fa. Dako immunglobulins, Copenhagen), in der Verdünnung 1:5 mit Phosphatpuffer auf das Präparat gebracht. In üblicher Weise wurde dann 30 Minuten in der feuchten Kammer inkubiert und in drei Phosphatpuffer- Bädern gespült.
Es folgte der Färbevorgang, der in Anlehnung an die Beschreibung von Petts und Roitt (24) modifiziert wurde:
5 mg eines 3,3 Diaminobenzidin tetrahydrochlorids ($C_{12}H_{18}Cl_4N_4 \cdot 2H_2O$)(Fa. Merck) wurden in 10 ml 0,05 n Tris-Puffers (pH 7,6) gelöst.
0,05 n Tris-Puffer, pH7,6 : 30,29 g Tris- (Hydroxymethyl)- - Aminomethan
40,91 g NaCl
auf 5 l Wasser, eingestellt mit HCl auf pH 7,6.

Kurz vor dem Färbevorgang wurde zu diesem Ansatz 0,01% H_2O_2 hinzugegeben. Die Darmpräparate wurden 4 Minuten gefärbt. Anschließend wurden die Präparate dreimal 10 Minuten in Phosphatpuffer gespült, mit Glycerin- NaCl (9:1) eingedeckt und unter einem üblichen Lichtmikroskop beurteilt.

Ergebnisse

I. Anamnese
Bei den Reihenuntersuchungen der Taubenzüchter wurde erfragt wieviel und wielange schon Tauben gehalten wurden. Im Durchschnitt hielten die 148 Taubenzüchter 83 Tauben, 20 Jahre lang. Die Probanden, die bei der Untersuchung negativ waren, also keine Fluoreszenz zeigten, hielten durchschnittlich 17 Jahre lang

83 Tauben (s. Tab. 1).

Tab. 1)

	Gesamt	Stromafluor.	Kotfluoresz.	Fluoresz. neg.
Jahre	2o	21,8	22	17
Tauben	83	83	82	83

Dagegen hielten die Probanden, die bei den Fluoreszenzuntersuchungen Stroma- bzw. Kotfluoreszenz gezeigt hatten durchschnittlich 22 bzw. 21,8 Jahre 82 bzw. 83 Tauben.
Taubenzüchter, die bei der Immunfluoreszenzuntersuchung auf Ig G- Antikörper positive Befunde zeigen, halten also im Durchschnitt 5 Jahre länger Tauben als in der Fluoreszenz negative Züchter. Die Anzahl der Tauben, also die Menge des evtl. inhalierten Antigens, scheint keine Rolle zu spielen.
Werden die Fluoreszenzmuster von Züchtern mit kurzer (bis zu 5 Jahren) Kontaktzeit mit Tauben den Mustern von Züchtern gegenübergestellt, die seit 20 Jahren und mehr Tauben halten, so ergibt sich eine Verteilung wie in Tab.2) dargestellt.

Tab. 2)	Anzahl	Kotfluor.	Stromafluor.	Fluor. neg.
über 20 Jahre	68	34= 50%	14= 23%	20=29%
bis 5 Jahre	2o	5= 20%	3= 15%	12=60%

Trotz der kleinen Zahlen ist zu erkennen, daß von den Seren der Züchter, die schon 20 Jahre und länger Tauben züchten, erheblich mehr Fluoreszenz zeigen (75%) als von den Seren der "Neulinge" (35%). Umgekehrt sind von den Seren der "Veteranen" 29% in der Immunfluoreszenz negativ, von den Seren der jüngeren Züchter 60%.
Verdächtige Symptome im Sinne der oben geschilderten Angaben (s. Symptome u. Befunde) gaben 6% der 148 untersuchten Taubenzüchter an. Es wurden nur solche Aussagen als positive (im Sinne einer möglichen Erkrankung) gewertet, bei denen das typische beschwerdefreie Intervall von 4 bis 8 Stunden angegeben wurde.

Angaben über Hustenreiz und Kratzen im Hals und ähnliche Symptome, die während der Schlagreinigung auftraten, wurden nicht als spezifische Symptome gewertet.

II. Nachweis präzipitierender Antikörper
im Agar-Gel-Doppeldiffusionstest

Sämtliche 148 Seren wurden im Agar-Gel-Doppeldiffusionstest auf präzipitierende Antikörper untersucht. Es wurden Diffusionen gegen frischen Taubenkot und Taubenserum durchgeführt.

Tab. 3)

	präzip. Antikörper
Taubenserum	16 = 10,8%
Taubenkot	40 = 27%

10,8% der Seren präzipitierten gegen Taubenserum, 27% gegen Taubenkot (s. Tab.3). Bemerkenswert ist, daß alle Präparate, die gegen Taubenserum Präzipitationslinien zeigten, auch gegen Taubenkot präzipitierten. Darüberhinaus präzipitierten 16,2% zusätzlich gegen Taubenkot.

III. Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm

a) Bindung von IgG-Antikörpern

Die 148 untersuchten Seren wiesen folgende zahlenmäßige Verteilung der Fluoreszenzmuster auf (Tab. 4):

Tab. 4)

	Muster I	Muster II	Muster III	Gesamt	negativ
alle untersuchten TZ	14=9,5%	19=12,8%	66=44,5%	99=66,8%	49=33,2%
anamnest. verdächt. TZ	3	-	5	8	1
anamn. unauff. TZ	11=8%	19=13,9%	61=45%	91=66%	48 =35%

Insgesamt zeigten 66,8% aller Präparate ein Fluoreszenzmuster, 33,2% waren negativ. Muster I (ausgeprägte Stromafluoreszenz) zeigten 9,5% aller Präparate, Muster II (Epithelfluoreszenz und basale Kotfluoreszenz) zeigten 12,8% der Präparate, und bei 44,5% der Taubenzüchterseren war eine mehr oder weniger ausgeprägte Kotfluoreszenz, Muster III, zu sehen. Von neun anamnestisch

verdächtigen Taubenzüchtern zeigte ein Drittel Muster I, nur ein Serum zeigte keine Fluoreszenz.

b) Bestimmung der Titerhöhe bei Antikörper-haltigen Taubenzüchterseren

Es wurden Verdünnungsreihen von zwölf Seren mit deutlicher Stromafluoreszenz und vier Seren mit deutlicher Kotfluoreszenz durchgeführt.

Tab. 5)

4 Seren mit Kotfluoreszenz

Prob. Nr.	max Stromafl.	Endstufe Stromafl.	max. Epithelfl.	Endstufe Ep. fl.	max. Kotfl.	Endst. Kotfl.	Umschlag
4	-	-	5	25	25	125	-
16	-	-	-	-	5	625	-
72	-	-	-	-	5	2o	-
74	-	-	-	-	5	125	-

12 Seren mit Stromafluoreszenz

Prob. Nr.	max. Stromafl.	Endstufe Stromafl.	max. Epithelfl.	Endstufe Epithelfl.	max. Kotfl.	Endst. Kotfl.	Umschlag
2	5	5	-	-	10	-	5-10
21	<5	125	5	5	5	625	<5
51	10	5	5	25	25	3125	5-25
52	5	10	5	5	10	-	5-10
79	<5	10	-	-	5-25	125	<5
86	<5	5	-	-	5	250	<5
119	5	10	10	10	10	120	5-10
131	5	5	5	5	25	625	5-25
134	5	5	-	-	10	500	5-10
143	5	5	5	5	10	3125	5-10
147	5	25	5	25	25-125	1000	5-25
151	5	25	5	5	125	1000	5-25

Erkl.: Zahlen= Titerstufen,- = keine Fluoreszenz (negativ)

Präparate mit ausgeprägter Kotfluoreszenz bei der Grundverdünnung (1:5) mit Phosphatpuffer erwiesen sich im Antikörpertiter niedriger, als Präparate mit Stromafluoreszenz in derselben Grundverdünnung. In der Tab. 5) sind jeweils die Stufen der maximalen Fluoreszenz sowie die Endstufen der Fluoreszenz, d.h. die Stufen der eben noch sichtbaren Fluoreszenz angegeben. Außerdem wurde der Umschlagpunkt Stromafluoreszenz/ Kotfluoreszenz bestimmt.

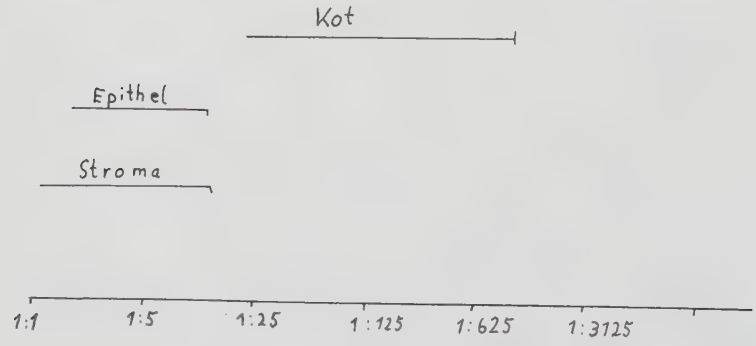
Zeigt ein Präparat in der Grundverdünnung eine ausgeprägte Kotfluoreszenz, so liegt die Endstufe der sichtbaren Fluoreszenz durchschnittlich bei einer Verdünnung von 1:900 (s. Tab. 6).

Tab. 6)

	Kotfluoresz. i.d.Grundverd. (4 Seren)	Stromafluoresz. i.d.Grundverd. (12 Seren)
max. Fluoresz.	5-25 (15)	Kot : 5-125 (25) Stroma : 1-5
Endstufe d. Fluor.	125	Kot : 125-3125 (900 Stroma : 5-25 (12

Bei den Verdünnungsreihen der Präparate mit Stromafluoreszenz in der Grundverdünnung war zu beachten, daß bei weiterer Verdünnung ein Übergang in Muster II und schließlich in Muster III stattfand. Ein markanter Punkt bei diesem Phänomen ist der plötzliche Umschlag von ausgeprägter Stromafluoreszenz in der Stufe der höheren Serumkonzentration in eine maximale Kotfluoreszenz in der nächstfolgenden geringeren Konzentrationsstufe. Dieser Umschlag erfolgte je nach Titerhöhe des spezifischen Antikörpers bei Titerstufen zwischen 5 und 10, sogar bis 25 (s. Tab. 5). Je höher der Antikörpergehalt des Serums war, desto später (d.h. bei größerer Verdünnung) erfolgte der Umschlag von Muster I in Muster III. Trägt man die Bereiche der Fluoreszenz einzelner Strukturen logarithmisch in einem Schaubild auf, so erhält man folgendes Bild (Abb. 1).

Abb. 1)



c) Bindung der Komplement - Komponenten $C1_q$ und C3

Von 36 Seren asymptomatischer Taubenzüchter zeigten 35 eine Fluoreszenz in irgendeiner Form. $C1_q$ - Antiseren banden sich bei 6 der untersuchten Seren, C3 - Antiseren bei 35. 32 der untersuchten Seren bewirkten eine Bindung der C3 - Antiseren an den Kot (Muster III). Die Aufteilung nach Fluoreszenzmustern s. Tab. 7).

Von 20 Seren gesunder Probanden zeigten 11 eine Fluoreszenz. Bei 2 Probanden trat eine Fluoreszenz mit $C1_q$ - Antiseren auf, bei 10 mit C3 - Antiseren. Bemerkenswert ist, daß alle fluoreszierenden Seren gesunder Probanden (also ohne Taubenkontakt) eine schwache Stromafluoreszenz hervorriefen. Bei 12 der 20 Seren leuchtete die glatte Muskulatur. Das Fluoreszein - markierte Antiserum band sich also bei den 20 gesunden Probanden immer nur an eine Struktur des Taubendarmes, niemals an den Kot.

Tab. 7)

$C1_q$ - Antiseren			C3 - Antiseren		
Muster I	Muster II	Muster III	Muster I	Muster II	Muster III
		(36 gesunde Taubenzüchter)			
2	-	4	-	3	32
	ges. : 6			ges. : 32	
		(20 gesunde Probanden)			
2	-	-	10	-	-
+ 2mal Fluor. glatter Musk.			+ 12mal Fluor. glatter Musk.		

d) Bindung von Antikörpern der Ig G - Unterklassen G_1 - G_4

Es wurden 13 symptomatische Taubenzüchter, 4 Züchter, die bei der Untersuchung auf Ig G - Antikörper Fluoreszenz gezeigt hat=

ten, sowie 10 Züchter, die keinerlei Fluoreszenz gezeigt hatten, untersucht. Bei allen Seren, sowohl symptomatischer als auch asymptomatischer Taubenzüchter, die eine Fluoreszenz bei den Untergruppen - Tasts zeigten, fluoreszeierte immer nur der Kot. Die Verteilung gibt Tab. 8) an. Einige Seren zeigten gleichzeitig in mehreren Untergruppen Fluoreszenz, daher stimmt die Gesamtsumme der positiven Seren nicht mit der Summe der Einzelfluoreszenzen überein.

Tab. 8)

	erkrankte Taubenz. (Anz. 13)	asympt. Taubenz. (neg)n (Anz. 10)	asympt. Taubenz. (pos) (Anz. 4)
G_1	2	1	1
G_2	1	-	-
G_3	2	-	1
G_4	7	-	3
Gesamt:	8	1	3

Von 13 kranken Taubenzüchtern zeigten 8 eine Fluoreszenz mit einer Untergruppe der Ig G - Klasse, von 10 asymptomatischen Taubenzüchtern ohne Antikörpernachweis in der Immunfluoreszenz mit Gesamt-Ig G zeigte nur einer Fluoreszenz (mit Ig G_1 - Antiserum). Von 4 Taubenzüchtern ohne Symptome, jedoch mit Antikörpernachweis der Ig G - Klasse, zeigten die Seren von 3 Taubenzüchtern Fluoreszenz. Bemerkenswert ist das häufige Auftreten von Ig G_4 - Antikörpern sowohl bei erkrankten als auch bei asymptomatischen Taubenzüchtern.

e) Bindung von Ig A - Antikörpern (Fluoreszenzmethode)

Es wurden Seren von 20 Taubenzüchtern untersucht, die alle in der Immunfluoreszenz mit Ig G - Antiseren positiv waren. 10 der Seren stammten von asymptomatischen und 10 von symptomatischen Taubenzüchtern. Zur Kontrolle wurden 40 Seren von Patienten

getestet, die keinen Kontakt zu Tauben hatten. 39 Seren waren negativ, ein Serum zeigte schwache Kotfluoreszenz, es stammte von einer Patientin mit einer Mitralstenose und zeitweilig erhöhtem Antistreptolysintiter.
Bei allen positiven Taubenzüchterseren in dieser Untersuchung trat ausschließlich Kotfluoreszenz auf. Bei den 10 Seren asymptomatischer Taubenzüchter mit spezifischen Antikörpern vom Ig G-Typ zeigten 5 Kotfluoreszenz, von 10 Seren erkrankter Taubenzüchter zeigten ebenfalls 5 Seren Kotfluoreszenz (s. Tab. 9).

Tab. 9)

	erkrankte Taubenz. (10)	asymptom. Taubenz. (pos. Ig G-AK) (10)	Kontrolle (40)
pos. Fluor.:	5	5	1

f) Bindung von Ig A - Antikörpern (Peroxydasemethode)
Dieselben 20 Seren (symptom. und asymptom. Taubenzüchter) wurden zusätzlich mit der Peroxydasemethode untersucht. Dabei ergab sich eine gute Übereinstimmung der Resultate im Vergleich mit der Methode der indirekten Immunfluoreszenz. Insgesamt zeigten 7 Seren Kotfärbung, alle positiven Seren bei dieser Untersuchung waren auch positiv bei der Untersuchung mit Fluoreszein - markierten Antiseren. Auch die Intensität der Färbung stimmte weitgehend mit der Intensität der Fluoreszenz überein. Dies entspricht den Ergebnissen von Petts und Roitt (24) (s. Tab. 10).

Tab. 10)

Ser.Nr.	Fluoreszenz	Peroxydase
86	++	++
151	+	+
Pat.So.	+	++
Pat.He.	++	++
Pat.Pi.	+++	+
Pat.Ba.	+	+
Pat.Al.	+++	++

Interpretation und Diskussion

I. Anamnese

Die Anzahl der Züchterjahre scheint eine Rolle bei der Frequenz der Antikörperbildung zu spielen. Generell läßt sich sagen, daß bei Züchtern mit längerem Taubenkontakt der spezifische Antikörper (nachgewiesen mit der indirekten Immunfluoreszenz) häufiger ist. Umgekehrt kann man sagen, daß Züchter mit nachgewiesenem spezifischen Antikörper (in der Immunfluoreszenz) im statistischen Durchschnitt länger Tauben hielten, als Taubenzüchter ohne spezifischen Antikörper.

9 der in dieser Arbeit untersuchten 148 Taubenzüchter gaben verdächtige Symptome an. Caldwell (5) schätzte die Häufikeit der Erkrankung bei amerikanischen Taubenzüchtern auf etwa 6% aller Züchter, ebenso Moore (22). Wettengel (29) dagegen nannte 1969 eine Häufigkeit von 0,1%.

Die Prävalenz der Erkrankung in der vorliegenden Arbeit kann jedoch nicht als zuverlässig angesehen werden, da sich Taubenzüchter, die zwar angaben, Beschwerden zu haben, nicht untersuchen ließen, aus der Angst heraus, ihre Tauben später abschaffen zu müssen. Im Ruhrgebiet, wo bekanntlich die meisten Taubenzüchter von Beruf Bergleute sind, entschlossen sich überhaupt nur wenige, die Untersuchung durchführen zu lassen, da sie befürchteten, ein eventuell gefundener positiver Befund könne sich negativ auf ihre berufsgenossenschaftliche Rente auswirken, die sie aufgrund teilweise hochgradiger Silikose erhalten.

II. Präzipitierende Antikörper

Präzipitierende Antikörper kamen in dieser Untersuchung bei gesunden Taubenhaltern in 27% vor, bei erkrankten Taubenzüchtern in 100% (Tab.11). Fink (14) fand bei 40% der Taubenzüchter präzipitierende Antikörper. Präzipitate gegen Taubenkot waren ein empfindlicher diagnostischer Parameter, sie traten in 27% auf im Gegensatz zu Präzipitaten gegen Taubenserum in 10,8%. Alle Seren die Präzipitate gegen Taubenserum hatten präzipitierten auch gegen Taubenkot.

III. Immunfluoreszenz auf dem Taubendarm

IgG-Antikörper

Die in dieser Arbeit in der Fluoreszenz nachgewiesenen Befunde sind in Tab.11) durch frühere Ergebnisse ergänzt (27, 28).

Tab. 11)

	Muster				
	präz.AK	I	II	III	neg.
30 Kontrollpersonen	-	-	-	-	30=100%
137 gesunde Taub.züchter	40=27%	11=8%	19=13,9%	61=45%	48=35%
9 anamn.verdächtige TZ		3	-	5	1
15 erkrankte Taub.züchter (provozierbar)	15=100%	15=100%	-	-	-

Bei dieser Reihenuntersuchung kamen spezifische Antikörper bei klinisch und anamnestisch unauffälligen Züchtern in 66,9% vor, bei sicher erkrankten Züchter (provozierbar) wurden sie in 100% gefunden (28). Das Auftreten des Fluoreszenzmusters I gibt eine zuverlässige Aussage über das Vorliegen einer Taubenzüchterlunge. Es war bei erkrankten (provozierbaren) Taubenzüchtern in 100% vorhanden, bei klinisch und anamnestisch unauffälligen Taubenzüchtern in nur 8%. Von neun anamnestisch verdächtigen Taubenzüchtern zeigte ein Drittel der Seren MusterI nur ein Serum zeigte keine Fluoreszenz.

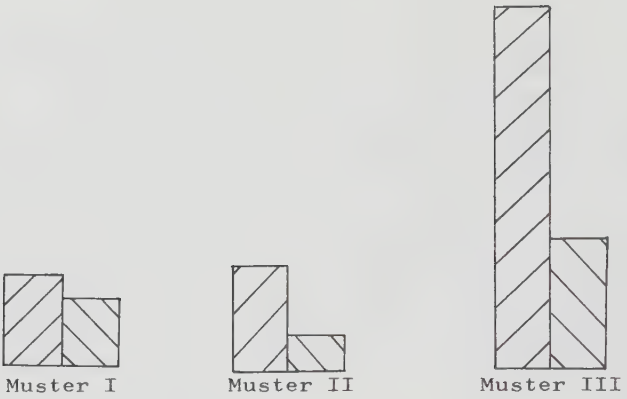
Vergleich: Präzipitierende Antikörper-Fluoreszenzmuster

Untersucht man das Vorkommen präzipitierender Antikörper bei Seren Unterschiedlicher Fluoreszenzmuster, so erhält man folgende Verteilung (s. Tab.12 und Abb.2):

Tab. 12)

	Muster I	Muster II	Muster III	neg.
Immunfluor.	14	19	66	49
davon präz. Antikörper	9	7	24	-

Abb. 2)



Erkl.: linke Säule = Fluoreszenzmuster
rechte Säule = Anteil präzipitierender Antikörper

D.h.: die Seren mit dem höchsten Antikörpergehalt in der Fluorszenz (s.Titerstufen) haben am häufigsten präzipitierende Antikörper. Kein Präparat ohne Fluoreszenz hatte präzipitierende Antikörper.
Doch wie bereits zu Beginn der Arbeit ausgeführt (s. Immunserologische Befunde) treten Präzipitate gegen Vogelimmunglobulin und Kotextrakt auch bei Personen ohne Vogelkontakt auf (16), andererseits wurden erkrankte Taubenzüchter ohne präzipitierende Antikörper gegen Kot gefunden (3). Diese Ergebnisse sollten die Präzipitationsreaktion als diagnostische Methode zur Erkennung der Taubenzüchterlunge in den Hintergrund treten lassen.

Titerstufen
Nachdem sich in der Immunfluoreszenz verschiedene Fluoreszenzmuster gezeigt hatten, galt es zu untersuchen, ob diese Unterschiede qualitativer oder quantitativer Natur waren. Zur Diagnose quantitativer Unterschiede zwischen den Mustern, d.h. zur Feststellung verschiedener Antikörpertiter, wurden Verdünnungsreihen von Seren mit deutlicher Stromafluoreszenz und Kotfluoreszenz durchgeführt. Diese Untersuchung ergab, daß der Antikörpertiter bei Seren mit dem Fluoreszenzmuster I (Stromafluoreszenz)höher war, als bei Seren, die in der Grundverdünnung das Muster III (Kotfluoreszenz)

zeigten. Das bedeutet, daß Seren mit dem höchsten Gehalt an spezifischen Antikörpern vom Ig G- Typ am häufigsten präzipitierende Antikörper haben (s. Tab. 12). Weiter bedeutet dieses Ergebnis, daß der Antikörpertiter mit der Dauer der Exposition von Tauben zunimmt (s. Tab. 1).
Warum der Ort der Antikörperbindung mit der Antikörperkonzentration wechselt (Stromafl./Kotfluor) konnte nicht geklärt werden, ebensowenig ließ sich klären, warum bei bestimmten Konzentrationsstufen des Antikörpergehaltes das Fluoreszenzmuster plötzlich von Stroma- auf Kotfluoreszenz umsprang.
Es gibt im Antigen-Antikörper- Verhältnis analog zur Präzipitationsreaktion Bereiche

1. des Antikörperüberschußes
2. Äquivalenzbereiche
3. Bereiche des Antigenüberschußes.

Diese Antigen-Antikörper Relationen wirken sich möglicherweise auf die Intensität der Fluoreszenz verschiedener Gewebe aus (Prozonenphänomen).

Komplementversuch
Alle Taubenzüchterseren bewirken Fluoreszenz mit Anti $C1_q$- oder Anti- C3, 55% der Seren gesunder Probanden ohne Vogelkontakt ebenfalls. Probanden ohne Taubenkontakt zeigen ausschließlich Gewebsfluoreszenz, niemals Kotfluoreszenz. Asymptomatische Taubenzüchter haben 89% auf den Serumpräparaten Kotfluoreszenz. Bei den Titerversuchen konnte gezeigt werden, daß Seren mit Stromafluoreszenz in der Grundverdünnung (1:5) einen höheren Antikörper- Titer haben als Seren mit Kotfluoreszenz in der Grundverdünnung. Hier, bei den Komplementversuchen, zeigte sich bei Probanden ohne Taubenkontakt Stromafluoreszenz. Da Probanden ohne Taubenkontakt keinen höheren Antikörperspiegel gegen Taubeneiweiß haben als Taubenzüchter, ist anzunehmen, daß die Fluoreszenz mit Anti-Komplement anderer Natur ist als die Fluoreszenz mit Anti- Ig G-Fluoreszenzseren.
Zur Erklärung der Fluoreszenz gesunder Probanden mit Anti $C1_q$ und Anti- C3 bieten sich mehrere Deutungen an:

1. das Antikomplement vom Kaninchen bindet sich nicht an Proban=denkomplement, sondern an das Tauben-eigene Komplement. Daher ist dort besonders häufig Fluoreszenz, wo Blutgefäße vorkommen: Zot=tenstroma, glatte Muskulatur.

2. das in der Taubenschleimhaut besonders reichlich auftretende IgA (als Sekret IgA) oder andere Faktoren des Taubenkots akti=vieren das Probandenkomplement auf dem "alternate pathway" (18). Dadurch werden die Komplement-Komponenten gewebsgebunden, das markierte Antiglobulin kann sich binden.

Diese Thesen reichen jedoch nicht aus, den Unterschied der Fluo=reszenzmuster zwischen gesunden Probanden und asymptomatischen Taubenzüchtern zu erklären. Wahrscheinlich bindet sich bei Tau=benzüchtern der nachgewiesene spezifische Antikörper an das Anti=gen, und zwar je nach Konzentration im Stroma oder Kot, und das Komplement lagert sich an den Antigen-Antikörper-Komplex an. Die zweite Frage, die sich bei der Betrachtung der Ergebnisse der Komplementuntersuchungen stellt, ist die nach dem unterschied=lich häufigen Auftreten von $C1_q$- und C3-Fluoreszenzen. Bei ge=sunden Taubenzüchtern banden sich 16,5% der $C1_q$- und 97% der C3-Antiseren. Dafür gibt es folgende Erklärung: das C3 ist aus=ser auf dem klassischen Weg auch auf dem alternate pathway akti=viert worden, z.B. durch Enzyme des Taubenkots (3). Daher auch die häufig auftretende Fluoreszenz des Taubenkots (89%) bei den Taubenzüchtern. Da C3 über zwei Wege gebunden werden kann (klassisch und 'alternate'), ist damit häufigere C3-Fluores=zenz denkbar.

IgG-Untergruppen (G_1-G_4)

Es konnte festgestellt werden, daß spezifische Antikörper der IgG-Klasse auf dem Taubendarm gebunden werden. Zum Zwecke der weiteren Identifizierung des IgG-Antikörpers wurden die Seren von 13 symptomatischen und 10 asymptomatischen Taubenzüchtern auf Antikörper der IgG-Unterklassen untersucht. Bemerkenswert war das Auftreten von Antikörpern der IgG_4-Unterklasse in bei=nahe 60% der Seren, die bei Voruntersuchungen im Gesamt-IgG positiv waren. In Normalseren treten die IgG-Unterklassen in folgender relativer Häufigkeit auf:

Ig G_1	70 - 80%
Ig G_2	13 - 18%
Ig G_3	6 - 8%
Ig G_4	3%

Die Bedeutung dieses Befundes für die Aufklärung der Pathogenese der Taubenzüchterlunge bleibt noch zu untersuchen.

Antikörper der Ig A - Klasse

Es wurden erstmalig bei Taubenzüchtern spezifische Antikörper vom Ig A - Typ gefunden. Das Auftreten von Ig A - Antikörpern ist verständlich, wenn man in Betracht zieht, daß der Antigen - Kontakt im Respirationstrakt stattfindet. So führen z.B. Virus=infektionen der Respirationswege zur Bildung von Ig A - Antikör=pern, bei i.v. Injektion desselben Antigens kommt die Antikörper=bildung nicht in Gang.

Caldwell (5) gelang es nicht, in der menschlichen Haut nach ei=nem Prausnitz - Küstner - Versuch und anschließender Immunfluo=reszenz Ig A - Antikörper nachzuweisen.

Berrens (3) wies auf die Möglichkeit hin, daß spezifische Anti=körper vom Ig A - Typ den alternate pathway anstoßen. Beim Ver=gleich mit den in dieser Arbeit durchgeführten Komplementuntersu=chungen ließen sich zwar Verbindungen konstruieren, aber nicht beweisen. Wegen der kleinen Zahl der untersuchten Seren läßt sich keine Aussage darüber machen, ob mit dieser Methode ein differen=tialdiagnostisches Kriterium geschaffen ist zur Unterscheidung gesunder und kranker Taubenzüchter.

Die in dieser Arbeit erstmalig durchgeführten Untersuchungen der Beteiligung der Ig G - Untergruppen sowie einzelner Komplement=faktoren ($C1_q$ und C3) an der Pathogenese der Erkrankung geben dem Untersucher zusätzliche Möglichkeiten der Diagnose der Taubenzüch=terlunge an die Hand. Besonders das hier erstmalig beschriebene Vorkommen von spezifischen Antikörpern des Ig A - Typs bei Tauben=

züchtern ist eine Bereicherung der immunologischen Diagnostik. Zumal mit der Peroxydasefärbung dem Untersucher eine der indirekten Immunfluoreszenz brauchbare alternative Untersuchungsmethode gegeben ist. Die Vergleiche der Ergebnisse mit der Fluoreszenzmethode ergeben eine gute Übereistimmung. Von Vorteil ist die Tatsache, daß zur Beurteilung der Ergebnisse der Peroxydasemethode ein normales Lichtmikroskop verwendet wird, statt des aufwendigen Fluoreszenzmikroskops.

LITERATUR

(1) Allen, D. H., A. Basten, G.V. Williams, A.J. Woolcock:
Familial hypersensitivity pneumonitis
Am. J. Med. 59: 505, 1975

(2) Barboriak, J.J., J.N. Fink, J.H. Scribner:
Antigenic specifity in a hypersensitivity pneumonitis
Int. Arch. Allergy 33: 473, 1968

(3) Berrens, L., C.L.G. Guikers, A. v, Dijk:
The antigens in pigeon breeders' desease and their interaction with human complement
Ann. N.Y. Acad. Sc. 221: 153, 1974

(4) Bitter- Suermann, D.:
Aktivierung des Komplements-
ein Monopol des Immunkomplexes
Klin. Weschr. 50: 227, 1972

(5) Caldwell, J. R., D.E. Pearce, et al.:
Immunologic mechanism in a hypersensitivity pneumonitis
J. Allergy clin. Immunol. 52/4: 225, 1973

(6) Campbell, H.M.:
Acute symptoms following work with hay
Br. Med. J. 2: 1143, 1932

(7) Coombs, R. R.A., Gell, P.G.H.:
Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and desease
Clinical aspects of immunology
Blackwell Scientific Publications, Oxford 1968, p. 575

(8) Coons, A.H.,A. J. Creech, R. N. Jones:
Immunological properties of an antibody containing fluorescent group
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 47: 200, 1941

(9) Edwards, J. H., J. J. Barboriak, J. N. Fink:
Antigens in pigeon breeders' desease
Immunology 19: 729, 1970

(10) Edwards, J. H., J. H. Fink, J. J. Barboriak:
Excretion of pigeon serum proteins in pigeon droppings
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 192: 207, 1969

(11) Faux, J. A., J.D. v. Holford-Strevens, H. D. Wells, J. Pepys:
False positive precipitation reactions to extract of organic dusts, due to a teichoic acid from S. aureus
Clin. exp. Immunol. 7: 897, 1970

(12) Faux, J. A., I. D. Wells, H. Pepys:
Specificity of avian serum proteins in test against the Sera of bird fanciers
Clin. Allergy 1: 159, 1971

(13) Fink, J. N., G. T. Hensley, J. J. Barboriak:
An animal model of hypersensitivity pneumonitis
J. Allergy 46/3: 156, 1970

(14) Fink, J. N., D. P. Schlueter:
Clinical survey in pigeon breeders
Chest 62: 277, 1972

(15) Fink, J. N., A. J. Sosman et al.:
Pigeon breeders' desease
Ann. intern. Med. 68: 1205, 1968

(16) Fink, J. N., A. J. Sosman, J. E. Savaggio, J. J. Barboriak:
(Differences) Precipitins in the diagnosis of a hypersensitivity pneumonitis
J. Allergy 48: 179, 1971

(17) Fink, J. N., T. Tebo, J. J. Barboriak:
Differences in the immune responses of pigeon breeders to pigeon serum protein
J. Lab. and Clin. Med. 74/2: 325, 1969

(18) Götze, O., H. J. Müller-Eberhard:
The C3 activator-system:
an alternate pathway of complement activation
J. exp. Med., Vol. 134/3,pt. 2: 90, 1971

(19) Hargreave, F. E., J. Pepys, J. L. Longbottom, D. G. Wraith:
Bird breeders' lung
Lancet 1966/I, 445

(20) Hensley, G. T., G. E. Garancis, J. E. Cherayil, J. N. Fink:
Lung biopsies of pigeon breeders' desease
Arch. Path. 87: 572, 1969

(21) Moore, V. L., J. N. Fink et al.:
Immunologic events in pigeon breeders' desease
J. Allergy clin. Immunol. 53: 319, 1974

(22) Moore, V. L., G. T. Hensley, J. N. Fink:
An animal model of hypersensitivity pneumonitis
in the rabbit
J. Clin. Investigation 56: 937, 1975

(23) Pepys, J.:
Pulmonary hypersensitivity desease to inhaled organic antigens:
Postgrad. Med. J. 42: 698, 1966

(24) Petts, V., I. M. Roitt:
Peroxydase conjugates for demonstration of tissue antibodies:
evaluation of the technique
Clin. exp. Immunol. 9: 407, 1971

(25) Reed, C. E., A. Sosman, R. A. Barbee:
Pigeon-Breeders'Lung
JAMA 193: 261, 1965

(26) Sennekamp, J., K. H. Grips, R. Felix, P. Schoroth:
Exogene allergische Alveolitis auf Huhn- und Taubenantigene

(27) Sennekamp, J., I. Stroehmann, L. S. Geisler,
H. D. Rost, F. Vogel:
Klinische Relevanz immunserologischer Untersuchungen
bei Taubenzüchterlunge
Pneumonologie 152: 51-55, 1975

(28) Sennekamp, J., F. Vogel, R. Stiens:
Detection of IgG-antibodies against pigeon bowel mucosa
Int. Arch. Allergy Immunol. (im Druck)

(29) Wettengel, R. H., H. Fabel, H. Deicher:
Vogelhalterlunge
Med. Klinik 64: 1969, 1969

(30) Yang, Y. P. S., D. T. Purtillo:
Immunofluoreszenz localisation of sensitizing
antigens in pigeon
Clin. Immunol. Immunpathology 46-51, 1975

Lebenslauf

Am 16.6.1948 wurde ich als Sohn des Polizeiwachtmeisters Gustav Lau und seiner Ehefrau Susanne in Rinteln/Weser geboren. Dort wohnten wir bis zu meinem vierten Lebensjahr; wegen eines Berufswechsels meines Vaters zog ich mit meiner Familie 1952 nach Herne um. Ab 1954 besuchte ich vier Jahre lang die Volksschule, anschließend das Pestalozzi - Gymnasium in Herne, und zwar den mathematisch - naturwissenschaftlichen Zweig. Nach der Schliessung dieser Schule wechselte ich über an das Städtische Jungengymnasium in Herne, später umbenannt in Otto - Hahn - Gymnasium. Dort legte ich 1967 die Reifeprüfung ab. Nach dem Abitur arbeitete ich zunächst als Hilfspfleger in einem Herner Krankenhaus, während dieser Arbeit entschloss ich mich zum Medizinstudium. Zunächst erhielt ich keinen Studienplatz, ich konnte den numerus clausus jedoch durch eine Prüfung am Ende des ersten Semesters in Bonn umgehen. Die gesamte Studienzeit studierte ich in Bonn, wo ich 1970 das Physikum ablegte und 1974 das Staatsexamen bestand. Während der Medizinalassistentenzeit arbeitete ich hauptsächlich in der Abteilung für Innere Medizin im Evangelischen Krankenhaus in Bad Godesberg bei Professor Hänze, anschließend für jeweils kurze Zeiträume in der Chirurgie und in der Geburtshilfe und Gynäkologie. Zur Zeit bin ich an der Universitäts - Kinderklinik beschäftigt. Mein Ziel ist es, Arzt für Allgemeinmedizin zu werden. Während der Medizinalassistentenzeit begann ich mit den Arbeiten für die vorliegende Dissertation. Am 24. April 1975 erhielt ich die Approbation als Arzt.